

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION
(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 29 March 2001 (29.03.01)	
International application No.: PCT/EP99/07049	Applicant's or agent's file reference: 5402P178WO HO/pd
International filing date: 22 September 1999 (22.09.99)	Priority date:
Applicant: GRASSI, Gabriele et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:
10 November 2000 (10.11.00)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

3912353

(12) NACH DEM VERTRAG VON 20. MÄRZ 1973 DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
29. März 2001 (29.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/21789 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/11,
9/00, 15/86, A61K 31/713, 48/00 // A61P 9/10, 41/00

KUHN, Anne, Christine [DE/DE]; Marienstrasse
33, D-72072 Tübingen (DE). KANDOLF, Reinhard
[DE/DE]; Untere Dornäcker 49, D-72379 Hechingen
(DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/07049

(74) Anwälte: WITTE, Alexander usw.; Postfach 10 54 62,
D-70046 Stuttgart (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
22. September 1999 (22.09.1999)

(81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, US.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT
TÜBINGEN [DE/DE]; Universitätsklinikum, Geissweg
3, D-72076 Tübingen (DE).

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

(72) Erfinder; und

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GRASSI, Gabriele
[DE/DE]; Mohlstrasse 52, D-72074 Tübingen (DE).



A1

(54) Title: RIBOZYMES USED FOR RESTENOSIS PREVENTION

WO 01/21789

(54) Bezeichnung: RIBOZYME ZUR RESTENOSE-PRÄVENTION

(57) Abstract: The invention relates to a catalytically active RNA molecule that is directed to mRNA molecules that encode the cell cycle relevant proteins cyclin E or E2F1. The catalytically active RNA molecule is a hammerhead ribozyme that induces the inhibition of the cell cycle of vascular smooth muscle cells in order to prevent restenosis.

(57) Zusammenfassung: Es wird ein katalytisch wirkendes RNA-Molekül vorgeschlagen, das gegen mRNA-Moleküle gerichtet ist, die für die zellzyklusrelevanten Proteine Cyclin E oder E2F1 kodieren. Das katalytisch wirkende RNA-Molekül ist ein Hammerkopf-Ribozym, das zur Prävention der Restenose den Zellzyklus-Arrest von vaskulären glatten Muskelzellen induziert.

Ribozyme zur Restenose-Prävention

Die vorliegende Erfindung beschäftigt sich mit der Therapie von Arteriosklerose, insbesondere mit der Prävention der Restenosierung von Blutgefäßen nach mit Angioplastie-Techniken behandelten Stenosen.

Die koronare Herzkrankheit und andere Arteriosklerose-Erkrankungen stellen die führende Ursache für Morbidität und Mortalität in den westlichen Industrieländern dar. Durchschnittlich jeder zweite Patient leidet an einer Herz-Kreislauf-Erkrankung infolge arteriosklerotischer Gefäßveränderungen.

Neben der operativen, meist Bypass-chirurgischen Behandlung haben in den letzten Jahren Angioplastie-Techniken stark an Bedeutung gewonnen, bei denen z.B. mittels Ballondilatation (PTCA) die Verengung bzw. der Verschluß des Gefäßes, also die Stenose, auf mechanische Weise beseitigt wird. Um einem erneuteten Verschluß des Gefäßes entgegenzuwirken, werden im Zusammenhang mit dieser Behandlung häufig sogenannte Stents in die Gefäß implantiert, um deren Lumen offenzuhalten, also eine Restenose zu verhindern.

Trotz neuester Kathetertechniken und Implantationen von Stents sowie pharmakologischer Intervention werden die oben erwähnten Therapiemaßnahmen jedoch wesentlich durch die Restenose limitiert, deren Inzidenz 30 - 50 % beträgt. Als Hauptursache für diese Restenosierung ist eine abnorme, transiente Wachstumsstimulation der vaskulären glatten Muskelzellen anzusehen. Das daraus resultierende unkontrollierte Wachstum der vaskulären glatten Muskelzellen und deren Wanderung in den intimalen Raum sowie verminderte Absterbevorgänge führen dann durch den sich ergebenden intimalen Zellreichtum zur Stenose. Dieser intime Zellreichtum an glatten Muskelzellen ist inzwischen akzeptierter Schlüsselbefund an humanen Restenosegeweben.

Für den individuellen Patienten ergibt sich im Falle der Restenosierung die Notwendigkeit eines erneuten, traumatisierenden, möglicherweise operativen Eingriffs mit üblichen Komplikationsrisiken. Allein schon hieraus ergibt sich die Notwendigkeit neuer wirksamerer Therapieansätze zur Prävention der Restenose.

Vor dem Hintergrund einer weltweiten Angioplastiefrequenz von ca. einer Million Eingriffen/Jahr zeigt sich ferner die Dimension einer Reduzierung kosten- und personalintensiver Akut- und Folgemaßnahmen durch derartige neue Therapieansätze. Geht man vom Modellcharakter der Restenose für die akzelerierte Arteriosklerose aus, so können durch diese neuen Therapieansätze auch Bypass-/Shunt-Arteriosklerose, Transplantat-Arteriopathie sowie klinisch besonders früh bzw. progradient verlaufende Arterioskleroseformen im Sinne einer primären Prävention vergleichbar effektiv behandelt werden. Über die intraluminale Behandlung umschriebener Zielstenosen hinaus bieten perkutane, nicht-operative Kathetertechniken auch die Option einer selektiven Gabe protektiver Substanzen in das Infarktgefäß mit dem Ziel einer Verkleinerung des Infarktareals bzw. einer Verhinderung der Aneurysmabildung.

Die vorliegende Erfindung schlägt in diesem Zusammenhang die Prävention der Restenose durch Proliferationshemmung der vaskulären glatten Muskelzellen vor, wobei therapeutische Gene verwendet werden, die den Zellzyklus-Arrest induzieren und direkt nach Ballondilatation appliziert werden können.

Dieser therapeutische Ansatz geht von der Erkenntnis aus, daß die massive lokale Erhöhung verschiedener Wachstumsfaktoren nach Ballondilatation mit daraus resultierender Synthese von G1-Phase-Cyclinen den Wiedereintritt der glatten Muskelzellen in den Zellzyklus und damit deren unkontrollierte Proliferation zur Folge hat.

Die Erfinder der vorliegenden Anmeldung haben in diesem Zusammenhang auf einem Kongreß vom 23. bis 27. September 1998 in

Cold Spring Harbor, New York, USA, bereits vorgeschlagen, Hammerkopf-Ribozyme, also katalytisch wirkende RNA-Moleküle, zu verwenden, die gegen mRNA-Moleküle gerichtet sind, die für die Zellzyklus-relevanten Proteine Cyclin E oder E2F1 kodieren; Grassi et al., Pathol Res Pract 1998, 194/4: 267 (Abstract 214). Dieser Ansatz geht von der Erkenntnis aus, daß eine effiziente Proliferationshemmung erreicht werden kann, wenn die Produktion Zellzyklus-relevanter Proteine verhindert wird, die an vielen verschiedenen regulatorischen Pfaden beteiligt sind.

Dies trifft für die Proteine Cyclin E und E2F1 zu, die Teil vieler regulatorischer Pfade sind, u.a. eines regulatorischen Rückkoppelmechanismus, bei dem Cyclin E durch Wechselwirkung mit anderen Produkten den Transkriptionsfaktor E2F1 in aktiver Form freisetzt. E2F1 wiederum aktiviert die Transkription von Genen, deren Produkte für die S-Phase essentiell sind und stimuliert sowohl die Transkription von Cyclin E als auch die seines eigenen Gens. Durch eine kombinierte Inaktivierung von Cyclin E und E2F1 ist daher eine besonders effiziente Induktion des Zellzyklus-Arrestes zu erzielen.

Funktion und Sequenz von Cyclin E und E2F1 sind in verschiedenen Publikationen beschrieben, z.B. von Koff et al., Cell (1991), Band 66, 1217-1228, Geng et al., Oncogene (1996), Band 12, 1173-1180, Helin et al., Cell (1992), Band 70, 337-350, Ohtani et al., PNAS (1995), Band 92, 12146-50. Durch die Inaktivierung dieser Proteine läßt sich die Progression der vaskulären glatten Muskelzellen durch den Zellzyklus effizient verhindern, der Übergang von der G1- in die S-Phase des Zellzyklus findet nicht statt.

Zur Inaktivierung von Genen und/oder deren Produkten stehen verschiedene Techniken zur Verfügung, die Verwendung von katalytischen RNA-Molekülen, sogenannten Ribozymen, hat jedoch den Vorteil, daß diese einerseits durch ihre katalytische Aktivität *in trans* zur Degradation der mRNA-Moleküle führen, die für die Proteine Cyclin E und E2F1 kodieren, wobei anderseits durch ihre Sequenz-spezifische Interaktion eine selektive Wirkung erreicht wird.

Die im Rahmen der Erfindung eingesetzten katalytischen RNA-Moleküle sind sogenannte Hammerkopf-Ribozyme, wie sie beispielsweise in dem Übersichtsartikel von Symons: Small Catalytic RNAs, Annu Rev Biochem (1992), Band 61, 641-671 beschrieben sind. Ihre Eigenschaft, komplementäre RNA-Moleküle über Basenpaarung zu binden und durch stellenspezifische Spaltung zu zerstören, macht die Hammerkopf-Ribozyme zu geeigneten Kandidaten für die Herstellung von Therapeutika.

Hammerkopf-Ribozyme sind prinzipiell so aufgebaut, daß sie zwei Sequenzabschnitte aufweisen, die sogenannten Bindungsarme, die für die spezifische Bindung an die Ziel-RNA verantwortlich sind, sowie einen mehr oder weniger konservierten, katalytisch wirkenden Sequenzabschnitt, der zwischen den beiden Bindungsarmen angeordnet ist. In diesem katalytischen Sequenzabschnitt gibt es zwei konservierte Bereiche am 3'- bzw. 5'-Ende, wobei zwischen diesen beiden Bereichen ein weiterer Sequenzabschnitt vorhanden ist, der zumindest teilweise doppelsträngig ausgebildet ist und zumindest theoretisch beliebige Länge und Sequenz aufweisen kann. Bei Bindung an die Ziel-RNA bildet sich der typische Hammerkopf aus, wie er in Fig. 1 gezeigt ist. Die

Spaltstelle ist durch einen Pfeil angedeutet, die konservierten Bereiche sind durch Kästchen hervorgehoben.

Wie bereits erwähnt, wird die Spezifität der Hammerkopf-Ribozyme durch die Sequenzen der Bindungsarme bestimmt, die im Bereich des Ziel-Triplets an das zu schneidende RNA-Molekül binden. Die Bestimmung von Bindungsarmen für gegen Ziel-RNA gerichtete Ribozyme erfordert damit zum einen die Identifizierung einzelsträngiger Bereiche in dem Ziel-RNA-Molekül sowie die Auswahl geeigneter Schnittstellen-Triplets mit darauffolgender Bestimmung der Sequenz der Bindungsarme. Insbesondere bei längersträngigen, komplizierten RNA-Molekülen, wie beispielsweise bei der mRNA für Cyclin E und E2F1, lassen sich die Sequenzen der Bindungsarme nicht einfach anhand der ggf. bekannten Sequenz des RNA-Moleküles bestimmen, da dessen Sekundärstruktur sowie die für die Ribozyme frei zugänglichen einzelsträngigen Bereiche sich aus der Sequenz nicht ohne weiteres ableiten lassen. Zwar gibt es Computermodelle, mit denen die Sekundärstruktur langer RNA-Moleküle bestimmt werden kann, die Erfinder der vorliegenden Anmeldung haben jedoch erkannt, daß dieses Verfahren zur Bestimmung geeigneter Schnittstellen bei mRNA-Molekülen für Cyclin E und E2F1 nicht erfolgreich angewandt werden kann.

Die Erfinder der vorliegenden Anmeldung haben daher die in den Ausführungsbeispielen näher beschriebene RNase H-Technik eingesetzt, um günstige Bindungsstellen für Hammerkopf-Ribozyme zu ermitteln. Nachdem die möglichen Angriffsstellen experimentell bestimmt worden waren, mußten daraus mögliche Bindungsarm-Sequenzen abgeleitet und die entsprechenden Ribozyme hergestellt werden. Dabei hat sich herausgestellt, daß die Länge der

Bindungsarme für die Wirksamkeit der katalytischen Aktivität der Ribozyme entscheidend ist, so daß effiziente Ribozyme wiederum nur experimentell bestimmt werden konnten.

Die in dem beiliegenden Sequenzprotokoll aufgeführten Sequenzen SEQ ID Nr. 1 und SEQ ID Nr. 2, SEQ ID Nr. 3 und SEQ ID Nr. 4, SEQ ID Nr. 5 und SEQ ID Nr. 6, SEQ ID Nr. 7 und SEQ ID Nr. 8, SEQ ID Nr. 9 und SEQ ID Nr. 10 sowie SEQ ID Nr. 11 und SEQ ID Nr. 12 stellen Bindungsarm-Paare für Enzyme gegen Cyclin E mRNA dar, und die Sequenzen SEQ ID Nr. 13 und SEQ ID Nr. 14, SEQ ID Nr. 15 und SEQ ID Nr. 16 sowie SEQ ID Nr. 17 und SEQ ID Nr. 18 geben Bindungsarm-Paare für Ribozyme gegen E2F1 RNA wieder. Ribozyme mit diesen Bindungsarmen weisen eine besonders gute katalytische Wirkung gegen die genannten mRNA-Moleküle auf, wie die Erfinder dieser Anmeldung experimentell nachweisen konnten.

Statt der angegebenen Sequenzen können die Bindungsarme auch Sequenzen aufweisen, die an an die jeweils genannten Sequenzen bindende Sequenzen binden.

Dabei ist es bevorzugt, wenn der katalytisch wirkende dritte Sequenzabschnitt an seinem 3'-Ende die Sequenz SEQ ID Nr. 19 und an seinem 5'-Ende die Sequenz SEQ ID Nr. 20 aufweist, wobei dieser dritte Sequenzabschnitt vorzugsweise die Sequenz SEQ ID Nr. 21 umfaßt.

Die Sequenzen getesteter Ribozyme gegen Cyclin E sind in dem beigefügten Sequenzprotokoll als SEQ ID Nr. 22 bis SEQ ID Nr. 27 und gegen E2F1 als SEQ ID Nr. 28 - SEQ ID Nr. 30 enthalten. In der in der Figurenbeschreibung angegebenen Tabelle 1 sind die kinetischen Konstanten für diese Ribozyme angegeben,

die im Bereich der besten für Hammerkopf-Ribozyme beschriebenen Konstanten liegen.

Obwohl prinzipiell die Einführung der katalytischen RNA-Moleküle in die Zielzellen mit einem entsprechenden Zielzell-spezifischen Transportsystem möglich ist, ist es vorteilhafter, hierfür DNA-Moleküle zu verwenden, die einen Sequenzabschnitt umfassen, der für die oben erwähnten katalytischen RNA-Moleküle kodiert. Dieser DNA-Sequenzabschnitt kann Teil eines Vektor-plasmides sein oder zur Erzeugung eines Vektors, vorzugsweise eines adenoviralen Vektors für gentherapeutische Anwendung, eingesetzt werden.

Insbesondere die Einführung der Fremd-DNA mittels rekombinanter Adenoviren besitzt gegenüber anderen Verfahren den Vorteil, daß Adenoviren Zielzellen mit hoher Effizienz infizieren und keine Gefahr der Insertionsmutagenese besteht.

Die prinzipielle Anwendbarkeit der somatischen Gentherapie für kardiovaskuläre Erkrankungen mittels Replikations-inkompetenter Adenoviren-Konstrukte wurde beispielsweise von Barr et al. J. Cell Biochem (1993), Band 17D, 192 beschrieben.

Allgemein ist also die therapeutische Wirkung entweder über selektive Transfersysteme oder über zellspezifische Genexpression erreichbar, wobei eine selektive und effiziente Expression durch Gewebe-spezifische Expression der therapeutischen Gene durch einen Promotor erreicht wird, der ausschließlich in glatten Muskelzellen exprimiert wird und eine hohe Expressionsrate zeigt.

In diesem Zusammenhang betrifft die vorliegende Erfindung auch eine therapeutische Zusammensetzung mit dem neuen katalytischen RNA-Molekül oder dem neuen DNA-Molekül bzw. dem neuen Vektorplasmid.

Um spezifische Vektoren bzw. Vektorplasmide herstellen zu können, betrifft die vorliegende Erfindung ferner einen Kit mit dem neuen DNA-Molekül, das zumindest einen für das neue RNA-Molekül kodierenden Sequenzabschnitt aufweist.

Allgemein betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung des neuen, katalytisch wirkenden RNA-Moleküls, des neuen DNA-Moleküls und/oder des neuen Vektorplasmides zur Prävention der Restenose mittels Proliferationshemmung der vaskulären glatten Muskelzellen.

Es versteht sich, daß die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in der jeweils angegebenen Kombination, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung verwendbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

Weitere Merkmale und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung bevorzugter Ausführungsbeispiele.

Die nachstehenden Beispiele werden anhand der beigefügten Zeichnung erläutert, in der:

Fig. 1 die schematische Struktur von Hammerkopf-Ribozymen zeigt; und

Fig. 2 eine Tabelle mit den gemessenen kinetischen Konstanten der getesteten Hammerkopf-Ribozyme wiedergibt.

Beispiel 1:

Struktur von Hammerkopf-Ribozymen

In Fig. 1 ist die prinzipielle Struktur von Hammerkopf-Ribozymen gezeigt, wie sie beispielsweise der eingangs genannten Veröffentlichung von Symons zu entnehmen ist.

In Fig. 1 ist ein mit einem Substrat (Ziel-mRNA) hybridisiertes Ribozym gezeigt, wobei sich zwischen dem Substrat und dem Ribozym zwei doppelsträngige Bereiche ausbilden, zwischen denen auf der Substrat-Seite die durch einen Pfeil angedeutete Spaltstelle zu finden ist. Auf der Ribozym-Seite befindet sich zwischen den beiden "Bindungsarm" genannten Sequenzabschnitten I und II der katalytische Bereich III, der konservierte Bereiche und variable Bereiche umfaßt, wobei die konservierten Bereiche durch Kästchen hervorgehoben sind.

Auf der Substratseite ist das Ziel-Triplett NUH ebenfalls durch ein Kästchen hervorgehoben. Es sei bemerkt, daß mit N eines der vier Nukleotide, mit H eines der Nukleotide A, U und C, mit Y ein Pyrimidin und mit R ein Purin bezeichnet ist.

Der katalytische Sequenzabschnitt des Ribozyms enthält an seinem 3'-Ende die Sequenz SEQ ID Nr. 19 und an seinem 5'-Ende die Sequenz SEQ ID Nr. 20 aus dem beigefügten Sequenzprotokoll. Ein Beispiel für den katalytischen Sequenzabschnitt III ist in SEQ ID Nr. 21 aus dem beigefügten Sequenzprotokoll gezeigt, wo auch

der doppelsträngige Bereich sowie der Loop-Bereich aus dem dritten Sequenzabschnitt III beispielhaft mit konkreten Nukleotiden angegeben ist.

Die Spezifität für die Ziel-mRNA ergibt sich bei dem Ribozym aus Fig. 1 durch die spezielle Sequenz der Bindungsarme I und II, die so ausgewählt werden müssen, daß sie auf dem Substrat - wie angegeben - ein Ziel-Triplett NUH flankieren.

Wie die Sequenzen der Bindungsarme zu bestimmen sind, wird jetzt in Beispiel 2 beschrieben.

Beispiel 2

RNase H-Kartierung der Ribozym-zugänglichen Spaltstellen von Cyclin E und E2F1

Die für Hammerkopf-Ribozyme zugänglichen Spaltstellen von Cyclin E und E2F1 lassen sich nicht unmittelbar anhand der bekannten Sequenzen der mRNAs für Cyclin E (Koff et al., a.a.O, Geng et al., a.a.O.) und E2F1 (Helin et al., a.a.O.) bzw. anhand von mathematischen Faltungsmodellen dieser mRNAs bestimmen, so daß experimentelle Methoden angewendet werden mußten.

Zur Bestimmung der zugänglichen Spaltstellen wurde daher die Methode der RNase H-Kartierung angewendet, wie sie von Zarinkar et al., Nature Struct Biol (1996) Band 3, 432 und Lapham et al., RNA (1996), Band 2, 289 beschrieben wurde. Hierzu wurden vollständig randomisierte Nonamer-Oligodesoxynukleotide mit der am 5'-Ende radioaktiv markierten Ziel-RNA inkubiert, wobei komplementäre Basenpaarung nur in offenen RNA-Strukturen, also

einzelsträngig vorliegenden "Loops", nicht aber in geschlossenen Regionen, sogenannten Stems, erfolgte. Basierend auf der Fähigkeit von RNase H, solche RNA/DNA-Hybride zu spalten, erhält man in Abhängigkeit der RNase-H-Schnittstellen eine Mischung von RNA-Fragmenten, deren Längen die Positionen der offenen Regionen widerspiegeln, die prinzipiell für Ribozyme zugänglich sind.

Die Länge der RNase H-Fragmente wurde dann elektrophoretisch bestimmt, wobei über den Einsatz Sequenz-spezifischer Oligodesoxyribonukleotide dann mögliche Ribozym-Spaltstellen bestätigt werden konnten.

Für Cyclin E erfolgt die RNase H-Kartierung mit Klasse III und Klasse I Transkripten, welche sich nur durch das Fehlen von zwei Exons im Klasse I-Transkript (Exon I und II) voneinander unterscheiden.

Auch für E2F1-Transkripte wurden zwei unterschiedlich lange RNAs verwendet, wobei jedoch dem verkürzten Transkript keine physiologische Bedeutung zukommt.

Die für Cyclin E und E2F1 experimentell bestimmten offenen RNA-Bereiche wurden mit verschiedenen Computer-gestützten Faltungsanalysen verglichen, wobei sich herausstellte, daß für experimentell kartierte Spaltstellen keine optimale Übereinstimmung mit der vorhergesagten Struktur gefunden werden konnte.

In Kenntnis des im Beispiel 1 erwähnten Ziel-Triplets NUH wurden dann für die offenen RNA-Bereiche verschiedene Sequenzen für die Bindungsarme I und II bestimmt, mit denen dann Hammerkopf-Ribozyme hergestellt und getestet wurden, wie dies nachstehend in Beispiel 3 beschrieben wird.

Bei diesen Versuchen stellte sich heraus, daß die Länge der Bindungsarme für die Effizienz der katalytischen Wirkung der so synthetisierten Ribozyme mit entscheidend ist, wobei sich weiter ergab, daß nicht jede mögliche Spaltstelle durch die erzeugten Ribozyme auch erkannt und gespalten werden konnte.

Die experimentell bestätigten Bindungsarm-Paare I und II sind in dem beigefügten Sequenzprotokoll als Sequenz SEQ ID Nr. 1 und 2, SEQ ID Nr. 3 und 4, SEQ ID Nr. 5 und 6, SEQ ID Nr. 7 und 8, SEQ ID Nr. 8 und 9, SEQ ID Nr. 9 und 10, SEQ ID Nr. 11 und 12, SEQ ID Nr. 13 und 14, SEQ ID Nr. 15 und 16 sowie SEQ ID Nr. 17 und 18 wiedergegeben, wobei die Sequenz mit der ungeraden SEQ ID jeweils den Bindungsarm am 5'-Ende und die mit der geraden SEQ ID den Bindungsarm am 3'-Ende des Ribozysms bezeichnet.

Beispiel 3

Aktivitätsbestimmung von Hammerkopf-Ribozymen

Anhand der Bindungsarme SEQ ID Nr. 1 bis 18 sowie der katalytisch wirksamen Sequenz SEQ ID Nr. 21 wurden neun Hammerkopf-Ribozyme hergestellt, deren Sequenzen im beigefügten Sequenzprotokoll unter SEQ ID Nr. 22 bis SEQ ID Nr. 30 angegeben sind.

Zur Aktivitätsbestimmung wurden in Anwesenheit von ^{32}P -UTP transkribierte RNAs für E2F1, Cyclin E Klasse I und Cyclin E Klasse III mit dem jeweiligen Ribozym inkubiert und die kinetische Konstante $K_{\text{cat}}/K_m \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ bestimmt. Die in vitro Aktivität der Hammerkopf-Ribozyme mit den Sequenzen SEQ ID Nr. 22-30 ist in der in Fig. 2 enthaltenen Tabelle 1 gezeigt.

Beispiel 4

Konstruktion Replikations-inkompetenter Adenoviren

Für die katalytischen RNA-Moleküle aus den Beispielen 2 und 3 kodierende DNA-Moleküle werden in einen adenoviralen Vektor kloniert, wobei die rekombinanten Adenoviren durch Mutation oder Deletion Replikations-inkompetent gemacht worden sind.

Patentansprüche

1. Katalytisch wirkendes RNA-Molekül, das gegen mRNA-Moleküle gerichtet ist, die für die Zellzyklus-relevanten Proteine Cyclin E oder E2F1 kodieren.
2. RNA-Molekül nach Anspruch 1, mit einem ersten, an die mRNA-Moleküle bindenden Sequenzabschnitt, einem zweiten, an die mRNA-Moleküle bindenden Sequenzabschnitt und einem zwischen dem ersten und dem zweiten Sequenzabschnitt befindlichen dritten Sequenzabschnitt, der eine stellenspezifische Spaltung eines gebundenen mRNA-Moleküls katalysiert.
3. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 1 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 1 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 2 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 2 bindende Sequenzen bindet.
4. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 3 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 3 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 4 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 4 bindende Sequenzen bindet.

5. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 5 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 5 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 6 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 6 bindende Sequenzen bindet.
6. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 7 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 7 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 8 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 8 bindende Sequenzen bindet.
7. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 9 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 9 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 10 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 10 bindende Sequenzen bindet.
8. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 11 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 11 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 12 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 12 bindende Sequenzen bindet.
9. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 13 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 13 bindende

Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 14 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 14 bindende Sequenzen bindet.

10. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 15 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 15 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 16 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 16 bindende Sequenzen bindet.
11. RNA-Molekül nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der erste Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 17 oder eine Sequenz, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 17 bindende Sequenzen bindet, und der zweite Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 18 oder eine Sequenz aufweist, die an an die Sequenz SEQ ID Nr. 18 bindende Sequenzen bindet.
12. RNA-Molekül nach einem der Ansprüche 2 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß der dritte Sequenzabschnitt an seinem 3'-Ende die Sequenz SEQ ID Nr. 19 und an seinem 5'-Ende die Sequenz SEQ ID Nr. 20 aufweist.
13. RNA-Molekül nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der dritte Sequenzabschnitt die Sequenz SEQ ID Nr. 21 aufweist.
14. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 22 aufweist.

15. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 23 aufweist.
16. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 24 aufweist.
17. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 25 aufweist.
18. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 26 aufweist.
19. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 27 aufweist.
20. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 28 aufweist.
21. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 29 aufweist.
22. RNA-Molekül nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID Nr. 30 aufweist.
23. DNA-Molekül mit zumindest einem für das RNA-Molekül nach einem der Ansprüche 1 bis 22 kodierenden Sequenzabschnitt.
24. Vektorplasmid, mit zumindest einem DNA-Sequenzabschnitt, der für das RNA-Molekül nach einem der Ansprüche 1 bis 22

kodiert, und einem dem DNA-Sequenzabschnitt vorgeschalteten Promotor.

25. Therapeutische Zusammensetzung mit einem RNA-Molekül nach einem der Ansprüche 1 bis 22 oder einem DNA-Molekül nach Anspruch 23 oder einem Vektorplasmid nach Anspruch 24.
26. Kit mit dem DNA-Molekül nach Anspruch 23.
27. Verwendung des RNA-Moleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 22 und/oder des DNA-Moleküls nach Anspruch 23 zur Erzeugung eines Vektors für Gentherapie.
28. Verwendung des RNA-Moleküls nach einem der Ansprüche 1 bis 22 und/oder des DNA-Moleküls nach Anspruch 23 und/oder des Vektorplasmides nach Anspruch 24 zur Inhibierung von Restenosierung angioplastisch behandelter Blutgefäße.

1 / 2

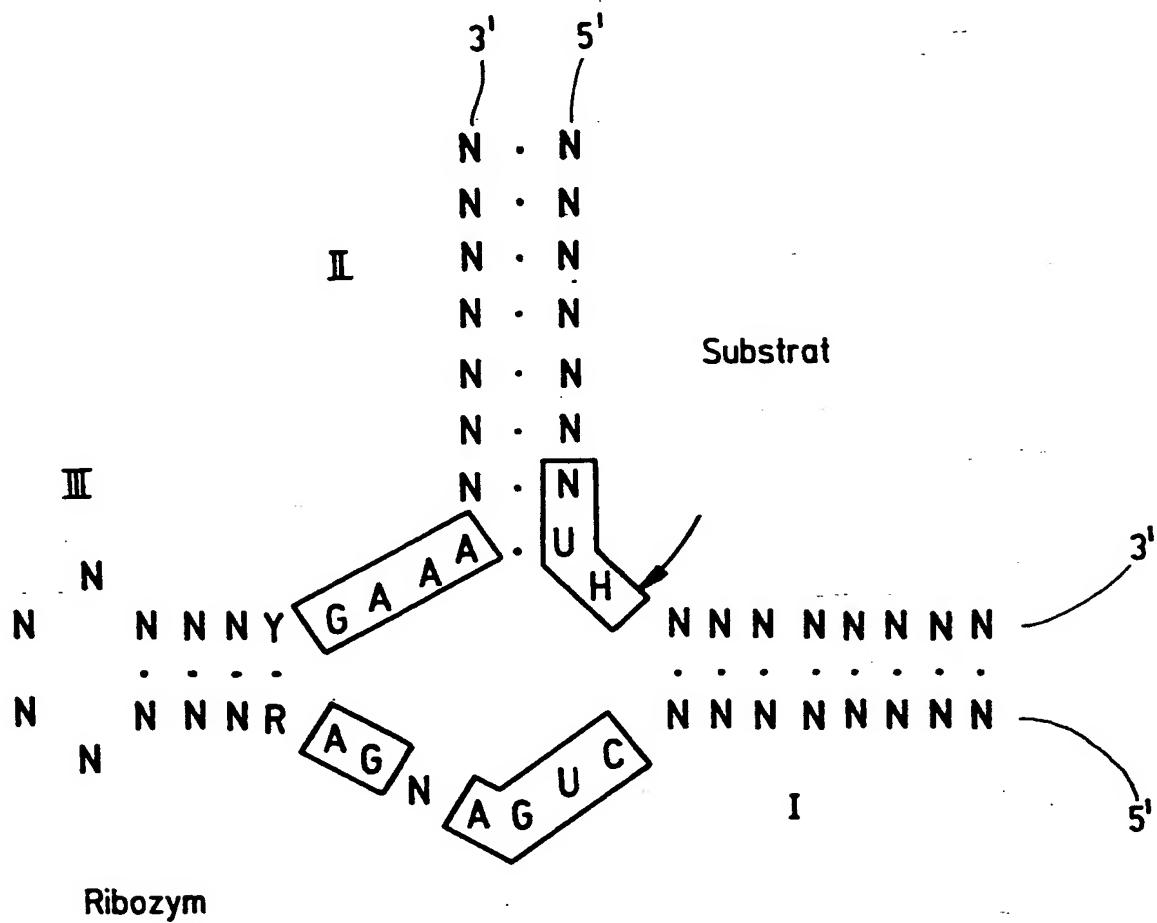


Fig.1

2/2

Tabelle 1

Ribozym	Ziel	Spalt-stelle	K _m	K _{cat}	K _{cat} /K _m
	Cyclin E		nM	10 ⁻³ min ⁻¹	10 ⁴ M ⁻¹ min ⁻¹
SEQ ID Nr. 22	Klasse III	439	13,9 ±1,88	9,7 ± 0,3	73 ± 7,76
	Klasse I	230	13,07±0,95	8,22±0,46	63,7± 3,7
SEQ ID Nr. 23	Klasse III	439	6,18 ±0,43	4,7 ± 0,44	75,9±1,8
	Klasse I	230	7,98 ±0,53	5,25±0,35	65,9±0,2
SEQ ID Nr. 24	Klasse III	1277	14,86±2,01	6,64±0,42	46,5±5,48
	Klasse I	1068	18,15±1,88	6,91±0,36	38,87±3,26
SEQ ID Nr. 25	Klasse III	1277	11,04±1,66	5,93±0,29	53,9±2,58
	Klasse I	1068	11,63±1,89	4,59±0,9	39,3±1,4
SEQ ID Nr. 26	Klasse III	221	51,46±0,24	7,03±0,89	13,3±1,85
SEQ ID Nr. 27	Klasse III	422	41,3 ±6,02	10,93±0,64	27±2,88
	Klasse I	213	34,09±3,56	10,1 ±1,27	29,6±2,9
E2F1					
SEQ ID Nr. 28	volle Länge	732	20,38±1,43	11,1± 0,45	56,18±2,75
	verkürzt	242	28,34±1,94	14,76± 1,8	52,17±5,8
SEQ ID Nr. 29	volle Länge	732	24,69±0,01	12,15±0,55	49,35±2,25
	verkürzt	242	22,24±0,23	14,99±0,41	66,5±1,15
SEQ ID Nr. 30	volle Länge	1180	23,53±0,16	8,4 ± 0,3	36±1,1
	verkürzt	690	38,9 ±5,34	14,45± 2,7	36,85±1,9

Fig. 2

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Eberhard-Karls-Universität Tübingen Universitätsk

<120> Ribozyme zur Restenose-Prävention

<130> 5402p178

<140>

<141>

<160> 30

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 1

ggaucagg

8

<210> 2

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 2

agcagggg

8

<210> 3

<211> 12

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 3
guggggauca gg

12

<210> 4
<211> 12
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 4
agcagggguc ug

12

<210> 5
<211> 8
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 5
ucaucagc

8

<210> 6
<211> 8
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 6
acgccccu

8

<210> 7
<211> 12
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 7

aucuuucauca gc

12

<210> 8

<211> 12

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 8

acggccccuga ag

12

<210> 9

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 9

cucggcau

8

<210> 10

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 10

augggggcu

8

<210> 11

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 11

ucugcaca

8

<210> 12

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz: 3'-Bindungsarm für Ribozym gegen Cyclin E

<400> 12

acugcauu

8

<210> 13

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz: 5'-Bindungsarm für Ribozym gegen E2F1

<400> 13

cguccgccc

8

<210> 14

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz: 3'-Bindungsarm für Ribozym gegen E2F1

<400> 14

acgccccac

8

<210> 15

<211> 12

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen

Sequenz: 5'-Bindungsarm für Ribozym gegen E2F1

<400> 15
aagccguccg cc

12

<210> 16
<211> 12
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen E2F1

<400> 16
acgcccacug ug

12

<210> 17
<211> 8
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:5'-Bindungsarm für Ribozym gegen E2F1

<400> 17
ugaguaga

8

<210> 18
<211> 8
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:3'-Bindungsarm für Ribozym gegen E2F1

<400> 18
acuggcug

8

<210> 19
<211> 4
<212> RNA
<213> Künstliche Sequenz

<220>
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:3'-Ende des
katalytischen Bereiches eines Ribozyms

<400> 19

ygaa

4

<210> 20

<211> 8

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:5'-Ende des
katalytischen Bereiches eines Ribozyms

<400> 20

cugangar

8

<210> 21

<211> 22

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:katalytischer
Bereich eines Ribozyms

<400> 21

cugaugaguc cgugaggacg aa

22

<210> 22

<211> 38

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Ribozym gegen
Cyclin E

<400> 22

ggaucaaggcu gaugaguccg ugaggacgaa agcagggg

38

<210> 23

<211> 46

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Ribozym gegen
Cyclin E

<400> 23

guggggauca ggcugaugag uccgugagga cgaaaggcagg ggucug

46

<210> 24

<211> 38

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
Cyclin E

<400> 24

ucaucagccu gaugaguccg ugaggacgaa acgccccu

38

<210> 25

<211> 46

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
Cyclin E

<400> 25

aucuucauca gccugaugag uccgugagga cgaaacgccc cugaag

46

<210> 26

<211> 38

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
Cyclin E

<400> 26

cucggcaucu gaugaguccg ugaggacgaa auggggcu

38

<210> 27

<211> 38

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
Cyclin E

<400> 27

ucugcacacu gaugaguccg ugaggacgaa acugcauu

38

<210> 28

<211> 38

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
E2F1

<400> 28

cguccgccccu gaugaguccg ugaggacgaa acgcccac

38

<210> 29

<211> 46

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
E2F1

<400> 29

aagccguccg cccugaugag uccgugagga cgaaacgccc acugug

46

<210> 30

<211> 38

<212> RNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Ribozym gegen
E2F1

<400> 30

ugaguagacu gaugaguccg ugaggacgaa acuggcug

38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/ 99/07049

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C12N15/11 C12N9/00 //A61P9/10, 41/00

C12N15/86

A61K31/713

A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 C12N A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal BIOSIS WPI EPODOC PAJ NPL XPESP MEDLIN EBI EXTERNAL DATABASES STRAN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>GRASSI G ET AL: "E2F1 and cyclin E directed ribozymes as a tool to inhibit smooth muscle cell proliferation after percutaneous transluminal angioplasty." EUROPEAN HEART JOURNAL, vol. 20, August 1999 (1999-08), page 367 XP000907169 ISSN: 0195-668X the whole document & XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN; AUGUST 28-SEPTEMBER 1, 1999,</p> <p>—</p> <p>—/—</p>	1,2, 23-28



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

22 May 2000

Date of mailing of the international search report

13/06/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Andres, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US99/07049

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GRASSI, G. ET AL.: "Growth inhibition of smooth muscle cells from human coronary plaque tissues by hammerhead ribozymes" PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE., vol. 194, 1998, page 267 XP000910797 ISSN: 0344-0338 cited in the application the whole document	1,2, 23-28
A	WO 97 10334 A (IMMUSOL INC) 20 March 1997 (1997-03-20) abstract; examples	1,2,12, 13,23-28
A	OHTANI K. ET AL.: "Regulation of the cyclin E gene by transcription factor E2F1." PROC NATL ACAD SCI U S A 92(26):12146-50, December 1995 (1995-12), XP002138279 cited in the application	
A	WEI GL. ET AL.: "Temporally and spatially coordinated expression of cell cycle regulatory factors after angioplasty." CIRC RES 1997 MAR;80(3):418-26, XP000907020	
A	GRASSI, M. ET AL: "Modeling of the in vitro hammerhead ribozymes reaction kinetics" PROC. 26TH INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER., July 1999 (1999-07), pages 62-63, XP002138280	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 99/07049

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although claim 28 relates to a method for treating the human/animal body, a search was carried out which was based on the indicated effects of the compound/composition.

2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority found that this International Application contains several inventions or groups of inventions, as follows:

1. Claims Nos.: 1-2, 12-13, 23-28 (all partially) and claims 3-8, 14-19

Catalytic RNA molecules that are directed to cyclin E mRNAs, vectors, kits and compositions containing them and the use thereof for inhibiting restenosis.

2. Claims Nos.: 1-2, 12-13, 23-28 (all partially) and claims 9-11, 20-22

Catalytic RNA molecules that are directed to E2F1 mRNAs, vectors, kits and compositions containing them and the use thereof for inhibiting restenosis.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/07049

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9710334 A	20-03-1997	US 5834440 A EP 0850301 A JP 11514855 T	10-11-1998 01-07-1998 21-12-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/ 99/07049

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N15/11 C12N9/00 C12N15/86 A61K31/713 A61K48/00
//A61P9/10, 41/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N A61K C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal BIOSIS WPI EPODOC PAJ NPL XPESP MEDLIN EBI EXTERNAL DATABASES STRAN

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>GRASSI G ET AL: "E2F1 and cyclin E directed ribozymes as a tool to inhibit smooth muscle cell proliferation after percutaneous transluminal angioplasty." EUROPEAN HEART JOURNAL, Bd. 20, August 1999 (1999-08), Seite 367 XP000907169 ISSN: 0195-668X das ganze Dokument & XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN; AUGUST 28-SEPTEMBER 1, 1999,</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1, 2, 23-28



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

22. Mai 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

13/06/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Andres, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT 99/07049

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GRASSI, G. ET AL.: "Growth inhibition of smooth muscle cells from human coronary plaque tissues by hammerhead ribozymes" PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE., Bd. 194, 1998, Seite 267 XP000910797 ISSN: 0344-0338 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2, 23-28
A	WO 97 10334 A (IMMUSOL INC) 20. März 1997 (1997-03-20) Zusammenfassung; Beispiele	1,2,12, 13,23-28
A	OHTANI K. ET AL.: "Regulation of the cyclin E gene by transcription factor E2F1." PROC NATL ACAD SCI U S A 92(26):12146-50, Dezember 1995 (1995-12), XP002138279 in der Anmeldung erwähnt	
A	WEI GL. ET AL.: "Temporally and spatially coordinated expression of cell cycle regulatory factors after angioplasty." CIRC RES 1997 MAR;80(3):418-26, XP000907020	
A	GRASSI, M. ET AL: "Modeling of the in vitro hammerhead ribozymes reaction kinetics" PROC. 26TH INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER., Juli 1999 (1999-07), Seiten 62-63, XP002138280	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/07049

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.

weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

Bemerkung: Obwohl Anspruch 28

sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen
Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich
auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

2. Ansprüche Nr.

weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. Ansprüche Nr.

weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-2,12-13,23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 3-8, 14-19

Katalytische RNA-Moleküle die gegen Cyclin E mRNAs gerichtet sind, Vektoren, Kits und Zusammensetzungen die sie enthalten und deren Verwendung zur Inhibition von Restenose.

2. Ansprüche: 1-2,12-13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 9-11,20-22

Katalytische RNA-Moleküle die gegen E2F1 mRNAs gerichtet sind, Vektoren, Kits und Zusammensetzungen die sie enthalten und deren Verwendung zur Inhibition von Restenose.

INTERNATIONALES RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zu dieser Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT 99/07049

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9710334 A	20-03-1997	US 5834440 A EP 0850301 A JP 11514855 T	10-11-1998 01-07-1998 21-12-1999

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AU DEM GEBIET DES PATENTWESEN**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts 5402P178W0 HO/pd	WEITERES VORGEHEN	siehe Mietung über die Übermittlung des Internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/07049	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
Annehmer		

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN et al.

Dieser Internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Annehmer gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser Internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt **5** Blätter.
 Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. **Grundlage des Berichts**
 - a. Hinsichtlich der Sprache Ist die Internationale Recherche auf der Grundlage der Internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
 Die Internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der Internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
 - b. Hinsichtlich der in der Internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die Internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
 In der Internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
 zusammen mit der Internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
 bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
 bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
 Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der Internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
 Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.
2. Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
3. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).
4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung
 - wird der vom Annehmer eingereichte Wortlaut genehmigt.
 - wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:
5. Hinsichtlich der Zusammenfassung
 - wird der vom Annehmer eingereichte Wortlaut genehmigt.
 - wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Recherchenbericht eine Stellungnahme vorlegen.
6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____
 - wie vom Annehmer vorgeschlagen
 - weil der Annehmer selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
 - weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.
 - keine der Abb.

INTERNATIONALES RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/07049

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl Anspruch 28
sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen
Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich
auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der Internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle Internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese Internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der Internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-2, 12-13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 3-8, 14-19

Katalytische RNA-Moleküle die gegen Cyclin E mRNAs gerichtet sind, Vektoren, Kits und Zusammensetzungen die sie enthalten und deren Verwendung zur Inhibition von Restenose.

2. Ansprüche: 1-2, 12-13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 9-11, 20-22

Katalytische RNA-Moleküle die gegen E2F1 mRNAs gerichtet sind, Vektoren, Kits und Zusammensetzungen die sie enthalten und deren Verwendung zur Inhibition von Restenose.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT 99/07049

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 C12N15/11 C12N9/00 C12N15/86 A61K31/713 A61K48/00
 //A61P9/10, 41/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassefikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 C12N A61K C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal BIOSIS WPI EPODOC PAJ NPL XPESP MEDLIN EBI EXTERNAL DATABASES STRAN

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GRASSI G ET AL: "E2F1 and cyclin E directed ribozymes as a tool to inhibit smooth muscle cell proliferation after percutaneous transluminal angioplasty." EUROPEAN HEART JOURNAL , Bd. 20, August 1999 (1999-08), Seite 367 XP000907169 ISSN: 0195-668X das ganze Dokument & XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN; AUGUST 28-SEPTEMBER 1, 1999, ----- -/-/	1, 2, 23-28

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,

"P" Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

22. Mai 2000

13/06/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Andres, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT 99/07049

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGEBEHRENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GRASSI, G. ET AL.: "Growth inhibition of smooth muscle cells from human coronary plaque tissues by hammerhead ribozymes" PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE., Bd. 194, 1998, Seite 267 XP000910797 ISSN: 0344-0338 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1, 2, 23-28
A	WO 97 10334 A (IMMUSOL INC) 20. März 1997 (1997-03-20) Zusammenfassung; Beispiele ---	1, 2, 12, 13, 23-28
A	OHTANI K. ET AL.: "Regulation of the cyclin E gene by transcription factor E2F1." PROC NATL ACAD SCI U S A 92(26):12146-50, Dezember 1995 (1995-12), XP002138279 in der Anmeldung erwähnt ---	
A	WEI GL. ET AL.: "Temporally and spatially coordinated expression of cell cycle regulatory factors after angioplasty." CIRC RES 1997 MAR;80(3):418-26, XP000907020 ---	
A	GRASSI, M. ET AL: "Modeling of the in vitro hammerhead ribozymes reaction kinetics" PROC. 26TH INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER., Juli 1999 (1999-07), Seiten 62-63, XP002138280 -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/ [REDACTED] 99/07049

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9710334 A	20-03-1997	US 5834440 A	EP 0850301 A	JP 11514855 T

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM
GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

REC'D 04 JAN 2002

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT) **T 5**

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5402P178WO HO/pd	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 22/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/11		

Anmelder

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN et al.

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT). Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.
3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - I Grundlage des Berichts
 - II Priorität
 - III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - VI Bestimmte angeführte Unterlagen
 - VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 10/11/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 28.12.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Strobel, A Tel. Nr. +49 89 2399 7362
	

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-14 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-28 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/2-2/2 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-8, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049

Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:
 - die Ansprüche eingeschränkt.
 - zusätzliche Gebühren entrichtet.
 - zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
 - weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
 - erfüllt ist
 - aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
 - alle Teile.
 - die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	3-22, 25
	Nein: Ansprüche	1, 2, 23, 24
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	14-22
	Nein: Ansprüche	1-13, 23-28
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-27
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

Zu Punkt IV

Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

Vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Anforderung von Regel 13.1 PCT nach Einheitlichkeit der Erfindung. Siehe auch Internationaler Recherchenbericht, Formblatt 210. Folgende zwei Gruppen von Erfindungen wurden identifiziert:

Gruppe 1: Ansprüche 1, 2, 12, 13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 3-8 und 14-19: Katalytische RN gegen Küchlein E MRA

Gruppe 2: Ansprüche 1, 2, 12, 13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 9-11 und 20-22: Katalytische RN gegen Küchlein E2F1 MRA

Regel 13.2 PCT stellt klar, daß bei einer beanspruchten Gruppe von Erfindungen nur dann das Erfordernis der Einheitlichkeit erfüllt ist, wenn zwischen diesen Erfindungen ein technischer Zusammenhang besteht, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt. Unter dem Begriff "besondere technische Merkmale" sind diejenigen technischen Merkmale zu verstehen, die einen Beitrag jeder beanspruchten Erfindung als Ganzes zum Stand der Technik darstellen. Das gemeinsame technische Merkmal beider Gruppen ist der katalytische Bereich zwischen beiden Bindungsarmen. Entscheidend für die Aktivität dieses Bereichs sind die konservierten Basen, die damit das wesentliche Merkmal des katalytischen Bereichs darstellen. Dies ist im Stand der Technik bekannt (D3 etwa beschreibt katalytische Bereiche von Hammerkopf-RN, die dieselben konservierten Basen enthalten wie in den SEQ ID no: 19-21 und Abbildung 1 der vorliegenden Anmeldung angegeben). Deshalb sind die SEQ ID No:19-21 keine besonderen gemeinsamen technischen Merkmale.

Angesichts der unter V. erhobenen Einwände erfolgt zum jetzigen Zeitpunkt kein Einheitlichkeitseinwand. Die Anmelder werden jedoch darauf hingewiesen, daß ein Einheitlichkeitseinwand beim Eintritt in die regionale Phase erhoben werden könnte.

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:

- D1: GRASSI G ET AL: EUROPEAN HEART JOURNAL, Bd. 20, August 1999 (1999-08), Seite 367 XP000907169 ISSN: 0195-668X & XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN; AUGUST 28-SEPTEMBER 1, 1999,
D2: GRASSI, G. ET AL.: PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE., Bd. 194, 1998, Seite 267 XP000910797 ISSN: 0344-0338 in der Anmeldung erwähnt
D3: WO 97 10334 A

1. Neuheit der Ansprüche 1, 2, 23 und 24 (Artikel 33(2) PCT)

D1 und D2 stellen die Veröffentlichung der vorliegenden Anmeldung dar, ohne allerdings die beanspruchten Sequenzen zu offenbaren. D1 und D2 beschreiben katalytische Hammerkopf-RN, die gegen CyclinE oder E2F1 MRA gerichtet sind und besagte MRA ortsspezifisch spalten. D1 offenbart außerdem optimierte Längen der beiden Bindungsarme. Es ist dabei allgemeines Fachwissen, daß Hammerkopf-RN zwei Bindungsarme (welche die Bindungsspezifität an spezielle MRA Moleküle vermitteln) und eine dazwischen liegende katalytische Domäne aufweisen.

D1 und D2 nehmen damit die Neuheit des Anspruchs 1 vorweg. D1 zerstört außerdem die Neuheit des Anspruchs 2.

D2 offenbart adenovirale Vektoren, die zur starken Expression besagter Ribozyme in glatten Muskelzellen dienen. Damit nimmt D2 die Neuheit der Ansprüche 23 und 24 (die sich u.a. auf Ansprüche 1 und 2 beziehen) vorweg.

2. Erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 12, 13 und 25-28

Ansprüche 12 und 13 beziehen sich u.a. auf Anspruch 2. Da, wie unter Punkt IV dargelegt, eine spezifische Sequenz eines katalytischen Bereichs eines Hammerkopf-Ribozyms keine erfinderische Tätigkeit gegenüber dem Stand der Technik betreffend diese katalytischen Bereiche aufweist (essentiell sind nur die konservierten Basen am 5' und 3'-Ende des katalytischen Bereichs, und die sind bekannt, z.B. D3), sind Ansprüche 12 und 13 offensichtlich (Nichterfüllung von Artikel 33(3) PCT).

D1 und D2 beschreiben die Verwendung der gegen Kühlein E und E2F1 MRA katalytisch aktiven Hammerkopf-RN in der Gentherapie der Restenose. Damit sind Ansprüche 25-28 offensichtlich.

3. Erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 3-13 und 23-28

Besagte Ansprüche beziehen sich auf RN-Moleküle, die Bindungsarme nach den SEQ ID Nos:1-18 aufweisen oder eine Sequenz, die an eine an eine der SEQ ID Nos:1-18 bindende Sequenz bindet. Alles bindet an alles unter unspezifischen Bedingungen und ohne Angabe von Sequenzspezifitäten. Da weder die Bedingungen der Bindung angegeben sind noch die beanspruchten RN-Moleküle durch ein technisches Merkmal definiert sind, sind besagte Ansprüche im Licht von D1 und D2 offensichtlich (Artikel 33(3) PCT).

4. Erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 14-22

D1 und D2 als nächster Stand der Technik legt nicht die spezifischen Ribozyme der Ansprüche 14-22 nahe. Besagte Ribozyme sind gegenüber den Substraten CyclinE/E2F1 katalytisch aktiv (s. Tabelle 1). Der Gegenstand besagter Ansprüche ist damit nicht offensichtlich (Artikel 33(3) PCT).

5. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände des vorliegenden Anspruchs 28 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Zu Punkt VIII

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

- Aus den unter V.3 angeführten Gründen sind Ansprüche 3-13 und 23-28 unklar (Artikel 6 PCT).

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An
 WITTE, WELLER, GAHLERT, OTTEN,
 STEIL, LINDNER, HEUCKEROTH
 Postfach 10 54 62
 D-70047 Stuttgart
 GERMANY

WITTE, WELLER & PARTNER
Patentanwälte

15. Juni 2000

Datum 13.08.2000 | notiert 001

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5402P178WO H0/pd	Absendedatum (Tag/Monat/Jahr) 13/06/2000
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/07049	WEITERES VORGEHEN siehe Punkte 1 und 4 unten Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999
Anmelder EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN et al.	

<p>1. <input checked="" type="checkbox"/> Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird. Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19: Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):</p> <p>Bis wann sind Änderungen einzureichen? Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.</p> <p>Wo sind Änderungen einzureichen? Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20, Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35 Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.</p> <p>2. <input type="checkbox"/> Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.</p> <p>3. <input type="checkbox"/> Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt werden sind. <input type="checkbox"/> noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde. <p>4. Weiteres Vorgehen: Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht: Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90^{bis} bzw. 90^c vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen. Innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte. Innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämmtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.</p>	
---	--

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Sandra De Jong-van Dam
--	--

(Siehe Anmerkungen auf Beiblatt)

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.
Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunumerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichtlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt." Oder "Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

"Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigefügt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzurichten und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amts sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts 5402P178WO H0/pd	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/ 07049	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
Annehmer		

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN et al.

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Annehmer gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.
 Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
- Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
- in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.

- Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).
- Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

- wird der vom Annehmer eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

- wird der vom Annehmer eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Recherchenbericht eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. —

- wie vom Annehmer vorgeschlagen
- weil der Annehmer selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.
- keine der Abb.

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT EP 99/07049

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl Anspruch 28
sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen
Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich
auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/07049

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGUTSTANDES	IPK 7	C12N15/11	C12N9/00	C12N15/86	A61K31/713	A61K48/00
//A61P9/10, 41/00						

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

IPK 7 C12N A61K C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal BIOSIS WPI EPODOC PAJ NPL XPESP MEDLIN EBI EXTERNAL DATABASES STRAN

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>GRASSI G ET AL: "E2F1 and cyclin E directed ribozymes as a tool to inhibit smooth muscle cell proliferation after percutaneous transluminal angioplasty." EUROPEAN HEART JOURNAL, Bd. 20, August 1999 (1999-08), Seite 367 XP000907169 ISSN: 0195-668X das ganze Dokument & XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN; AUGUST 28-SEPTEMBER 1, 1999,</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1, 2, 23-28



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

22. Mai 2000

13/06/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Andres, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/07049

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENES UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GRASSI, G. ET AL.: "Growth inhibition of smooth muscle cells from human coronary plaque tissues by hammerhead ribozymes" PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE., Bd. 194, 1998, Seite 267 XP000910797 ISSN: 0344-0338 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1,2, 23-28
A	WO 97 10334 A (IMMUSOL INC) 20. März 1997 (1997-03-20) Zusammenfassung; Beispiele ---	1,2,12, 13,23-28
A	OHTANI K. ET AL.: "Regulation of the cyclin E gene by transcription factor E2F1." PROC NATL ACAD SCI U S A 92(26):12146-50, Dezember 1995 (1995-12), XP002138279 in der Anmeldung erwähnt ---	
A	WEI GL. ET AL.: "Temporally and spatially coordinated expression of cell cycle regulatory factors after angioplasty." CIRC RES 1997 MAR;80(3):418-26, XP000907020 ---	
A	GRASSI, M. ET AL: "Modeling of the in vitro hammerhead ribozymes reaction kinetics" PROC. 26TH INT. SYMP. CONTROLLED RELEASE BIOACT. MATER., Juli 1999 (1999-07), Seiten 62-63, XP002138280 -----	

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-2,12-13,23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 3-8, 14-19

Katalytische RNA-Moleküle die gegen Cyclin E mRNAs gerichtet sind, Vektoren, Kits und Zusammensetzungen die sie enthalten und deren Verwendung zur Inhibition von Restenose.

2. Ansprüche: 1-2,12-13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 9-11,20-22

Katalytische RNA-Moleküle die gegen E2F1 mRNAs gerichtet sind, Vektoren, Kits und Zusammensetzungen die sie enthalten und deren Verwendung zur Inhibition von Restenose.

INTERNATIONALES RECHERCHENBERICHTInternationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/07049**Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)**

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl Anspruch 28 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/07049

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9710334 A	20-03-1997	US 5834440 A EP 0850301 A JP 11514855 T	10-11-1998 01-07-1998 21-12-1999

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

WITTE, WELLER, GAHLERT, OTTEN,
STEIL, LINDNER, HEUCKEROTH
Postfach 10 54 62
D-70047 Stuttgart
ALLEMAGNE

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS

(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr) 28.12.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
5402P178WO HO/pd ✓

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049 ✓	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999 ✓	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999 ✓
--	---	--

Anmelder

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN et al. ✓

- Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
- Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
- Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung
beauftragten Behörde

Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Faux, K

Tel. +49 89 2399-8062



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM
GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5402P178WO HO/pd	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 22/09/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 22/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/11		
Anmelder EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN et al.		

<ol style="list-style-type: none"> 1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt. 2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts. <input type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT). <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.</p>
--

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I Grundlage des Berichts
- II Priorität
- III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 10/11/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 28.12.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Strobel, A Tel. Nr. +49 89 2399 7362



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-14 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-28 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/2-2/2 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-8, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen

**INTERNATIONALER VORLAUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049

Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:
 - die Ansprüche eingeschränkt.
 - zusätzliche Gebühren entrichtet.
 - zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
 - weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.
2. Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
 - erfüllt ist
 - aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
 - alle Teile.
 - die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**INTERNATIONALER VORAUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/07049

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	3-22, 25
	Nein: Ansprüche	1, 2, 23, 24
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	14-22
	Nein: Ansprüche	1-13, 23-28
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-27
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

Zu Punkt IV

Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

Vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Anforderung von Regel 13.1 PCT nach Einheitlichkeit der Erfindung. Siehe auch Internationaler Recherchenbericht, Formblatt 210. Folgende zwei Gruppen von Erfindungen wurden identifiziert:

Gruppe 1: Ansprüche 1, 2, 12, 13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 3-8 und 14-19: Katalytische RN gegen Küchlein E MRA

Gruppe 2: Ansprüche 1, 2, 12, 13, 23-28 (alle teilweise) und Ansprüche 9-11 und 20-22: Katalytische RN gegen Küchlein E2F1 MRA

Regel 13.2 PCT stellt klar, daß bei einer beanspruchten Gruppe von Erfindungen nur dann das Erfordernis der Einheitlichkeit erfüllt ist, wenn zwischen diesen Erfindungen ein technischer Zusammenhang besteht, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt. Unter dem Begriff "besondere technische Merkmale" sind diejenigen technischen Merkmale zu verstehen, die einen Beitrag jeder beanspruchten Erfindung als Ganzes zum Stand der Technik darstellen. Das gemeinsame technische Merkmal beider Gruppen ist der katalytische Bereich zwischen beiden Bindungsarmen. Entscheidend für die Aktivität dieses Bereichs sind die konservierten Basen, die damit das wesentliche Merkmal des katalytischen Bereichs darstellen. Dies ist im Stand der Technik bekannt (D3 etwa beschreibt katalytische Bereiche von Hammerkopf-RN, die dieselben konservierten Basen enthalten wie in den SEQ ID no: 19-21 und Abbildung 1 der vorliegenden Anmeldung angegeben). Deshalb sind die SEQ ID No:19-21 keine besonderen gemeinsamen technischen Merkmale.

Angesichts der unter V. erhobenen Einwände erfolgt zum jetzigen Zeitpunkt kein Einheitlichkeitseinwand. Die Anmelder werden jedoch darauf hingewiesen, daß ein Einheitlichkeitseinwand beim Eintritt in die regionale Phase erhoben werden könnte.

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:

- D1: GRASSI G ET AL: EUROPEAN HEART JOURNAL, Bd. 20, August 1999 (1999-08), Seite 367 XP000907169 ISSN: 0195-668X & XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN; AUGUST 28-SEPTEMBER 1, 1999,
- D2: GRASSI, G. ET AL.: PATHOLOGY RESEARCH AND PRACTICE., Bd. 194, 1998, Seite 267 XP000910797 ISSN: 0344-0338 in der Anmeldung erwähnt
- D3: WO 97 10334 A

1. Neuheit der Ansprüche 1, 2, 23 und 24 (Artikel 33(2) PCT)

D1 und D2 stellen die Veröffentlichung der vorliegenden Anmeldung dar, ohne allerdings die beanspruchten Sequenzen zu offenbaren. D1 und D2 beschreiben katalytische Hammerkopf-RN, die gegen CyclinE oder E2F1 MRA gerichtet sind und besagte MRA ortsspezifisch spalten. D1 offenbart außerdem optimierte Längen der beiden Bindungssarme. Es ist dabei allgemeines Fachwissen, daß Hammerkopf-RN zwei Bindungssarme (welche die Bindungspezifität an spezielle MRA Moleküle vermitteln) und eine dazwischen liegende katalytische Domäne aufweisen.

D1 und D2 nehmen damit die Neuheit des Anspruchs 1 vorweg. D1 zerstört außerdem die Neuheit des Anspruchs 2.

D2 offenbart adenovirale Vektoren, die zur starken Expression besagter Ribozyme in glatten Muskelzellen dienen. Damit nimmt D2 die Neuheit der Ansprüche 23 und 24 (die sich u.a. auf Ansprüche 1 und 2 beziehen) vorweg.

2. Erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 12, 13 und 25-28

Ansprüche 12 und 13 beziehen sich u.a. auf Anspruch 2. Da, wie unter Punkt IV dargelegt, eine spezifische Sequenz eines katalytischen Bereichs eines Hammerkopf-Ribozyms keine erfinderische Tätigkeit gegenüber dem Stand der Technik betreffend diese katalytischen Bereiche aufweist (essentiell sind nur die konservierten Basen am 5' und 3'-Ende des katalytischen Bereichs, und die sind bekannt, z.B. D3), sind Ansprüche 12 und 13 offensichtlich (Nichterfüllung von Artikel 33(3) PCT).

D1 und D2 beschreiben die Verwendung der gegen Küchlein E und E2F1 MRA katalytisch aktiven Hammerkopf-RN in der Gentherapie der Restenose. Damit sind Ansprüche 25-28 offensichtlich.

3. **Erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 3-13 und 23-28**
Besagte Ansprüche beziehen sich auf RN-Moleküle, die Bindungssarme nach den SEQ ID Nos:1-18 aufweisen **oder eine Sequenz, die an eine an eine der SEQ ID Nos:1-18 bindende Sequenz bindet.** Alles bindet an alles unter unspezifischen Bedingungen und ohne Angabe von Sequenzspezifitäten. Da weder die Bedingungen der Bindung angegeben sind noch die beanspruchten RN-Moleküle durch ein technisches Merkmal definiert sind, sind besagte Ansprüche im Licht von D1 und D2 offensichtlich (Artikel 33(3) PCT).
4. **Erfinderische Tätigkeit der Ansprüche 14-22**
D1 und D2 als nächster Stand der Technik legt nicht die spezifischen Ribozyme der Ansprüche 14-22 nahe. Besagte Ribozyme sind gegenüber den Substraten CyclinE/E2F1 katalytisch aktiv (s. Tabelle 1). Der Gegenstand besagter Ansprüche ist damit nicht offensichtlich (Artikel 33(3) PCT).
5. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände des vorliegenden Anspruchs 28 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Zu Punkt VIII

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

- Aus den unter V.3 angeführten Gründen sind Ansprüche 3-13 und 23-28 unklar (Artikel 6 PCT).

Translation

PATENT COOPERATION TREATY
PCT
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference S402P178WO HO/pd	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/EP99/07049	International filing date (day/month/year) 22 September 1999 (22.09.99)	Priority date (day/month/year)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/11, 9/00, 15/86, A61K 31/713, 48/00, A61P 9/10, 41/00		
Applicant EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

I Basis of the report
II Priority
III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV Lack of unity of invention
V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI Certain documents cited
VII Certain defects in the international application
VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 November 2000 (10.11.00)	Date of completion of this report 28 December 2001 (28.12.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/07049

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:^{*} the international application as originally filed the description:

pages _____ 1-14 _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the claims:

pages _____ 1-28 _____, as originally filed

pages _____, as amended (together with any statement under Article 19) _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

pages _____, filed with the letter of _____

 the drawings:

pages _____ 1/2-2/2 _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the sequence listing part of the description:

pages _____ 1-8 _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.
These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is: the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig _____5. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).^{**}

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/07049**IV. Lack of unity of invention**

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- restricted the claims.
- paid additional fees.
- paid additional fees under protest.
- neither restricted nor paid additional fees.

2. This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- complied with.
- not complied with for the following reasons:

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- all parts.
- the parts relating to claims Nos. _____

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Box IV.

Lack of unity of invention

The present application does not meet the requirements for unity of invention of PCT Rule 13.1; see also the international search report, Form 210. The following two groups of inventions were identified:

Group 1: Claims 1, 2, 12, 13, 23-28 (all in part) and Claims 3-8 and 14-19: catalytic RN against cyclin E MRA;

Group 2: Claims 1, 2, 12, 13, 23-28 (all in part) and Claims 9-11 and 20-22: catalytic RN against cyclin E2F1 MRA.

PCT Rule 13.2 states clearly that a claimed group of inventions satisfies the requirement for unity of invention only if there is a technical relationship among those inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. The expression "special technical features" means those technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art. The common technical feature of the above two groups is the catalytic region between the two bonding arms. The conserved bases are crucial to the activity of said region and are therefore an essential feature of the catalytic region. This fact is known from the prior art (D3,

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/EP 99/07049**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Box IV.

for example, describes catalytic regions of hammerhead RN, said regions containing the same conserved bases as indicated in SEQ ID NOS: 19-21 and Figure 1 of the present application).

Consequently, SEQ ID NOS: 19-21 are not common special technical features.

In view of the objections raised under Box V, no objection is currently made regarding a lack of unity of invention. The applicant is nevertheless reminded that such an objection could be raised upon entry into the regional phase.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 99/07049

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	3-22, 25	YES
	Claims	1, 2, 23, 24	NO
Inventive step (IS)	Claims	14-22	YES
	Claims	1-13, 23-28	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-27	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

D1: GRASSI G ET AL: EUROPEAN HEART JOURNAL, Vol. 20,
August 1999 (1999-08), page 367 XP000907169

ISSN: 0195-668X 6 XXIST CONGRESS OF THE EUROPEAN
SOCIETY OF CARDIOLOGY; BARCELONA, SPAIN;
AUGUST 28 - SEPTEMBER 1 1999

D2: GRASSI G. ET AL.: PATHOLOGY RESEARCH AND
PRACTICE., Vol. 194, 1998, page 267 XP000910797
ISSN: 0344-0338, cited in the application

D3: WO-A-97/10334.

**1. Novelty of Claims 1, 2, 23 and 24 (PCT Article
33(2))**

D1 and D2 correspond to the disclosure of the present application without, however, disclosing the claimed sequences. D1 and D2 describe catalytic hammerhead RN which are directed against cyclin E or E2F1 MRA and cleave said MRA at a specific point.

D1 also discloses optimum lengths for the two bonding arms. It is general technical knowledge that hammerhead RN have two bonding arms (which establish the bonding specificity to special MRA

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/EP 99/07049

molecules) and a catalytic region therebetween.

D1 and D2 therefore anticipate the novelty of Claim 1. D1 also anticipates the novelty of Claim 2.

D2 discloses adenoviral vectors which are used for the powerful expression of said ribozymes in smooth muscular cells. D2 therefore anticipates the novelty of Claims 23 and 24 (which refer, *inter alia*, to Claims 1 and 2).

2. Inventive step of Claims 12, 13 and 25-28

Claims 12 and 13 refer, *inter alia*, to Claim 2. Since, as specified under Box IV, a specific sequence of a catalytic region of a hammerhead ribozyme does not involve an inventive step in relation to the prior art concerning these catalytic regions (essentially only the conserved bases at the 5' and the 3' end of the catalytic region are known; see, for example D3), Claims 12 and 13 are obvious (PCT Article 33(3) is not satisfied).

D1 and D2 describe the use of catalytically active hammerhead RN against cyclin E and E2F1 MRA in restenosis gene therapy. Claims 25-28 are therefore obvious.

3. Inventive step of Claims 3-13 and 23-28

The above claims relate to RN molecules that have bonding arms according to SEQ ID NOS: 1-18 or a sequence that bonds to one of the sequences that bonds to SEQ ID NOS: 1-18. Everything bonds to

everything under non-specific conditions and without indicating sequence specificities. Since the bonding conditions are not specified and the claimed RN molecules are not defined in terms of a technical feature, the above claims are obvious in the light of D1 and D2 (PCT Article 33(3)).

4. Inventive step of Claims 14-22

D1 and D2 as the closest prior art do not suggest the specific ribozymes of Claims 14-22. Said ribozymes are catalytically active in relation to the substrates cyclin E/E2F1 (see Table 1). The subject matter of the above claims is therefore non-obvious (PCT Article 33(3)).

- 5.** The PCT Contracting States do not have uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claim 28 in its present form. Patentability may depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the medical use of a compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical application. —

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT 99/07049**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 3-13 and 23-28 are unclear for the reasons specified in Box V, point 3 (PCT Article 6).